VISIT…

LANZAROTE Caliente.com

Phytochemistry, 1973, Vol. 12, pp. 2039 to 2042. Pergamon Press. Printed in England.

ALCALOÏDES DES FEUILLES DE *VOACANGA THOUARSII**

YVES ROLLAND, GUY CROQUELOIS, NICOLE KUNESCH, PIERRE BOITEAU†, MAURICE DEBRAY‡, JACQUES PECHER§ et JACQUES POISSON

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Paris-Sud, Rue J. B. Clément, 92290 Chatenay-Malabry, France

(*Reçu le 5 février* 1973. *Accepté le* 1 *mars* 1973)

Key Word Index—*Voacanga thouarsii*; Apocynaceae; vobtusine; bis-indole alkaloids.

Abstract—Leaves of *Voacanga thouarsii* Roem. et Schult. yielded 3 indole alkaloids (ibogaine, voacangine, voacristine) and 12 'bis-indole' alkaloids. Three of the latter are known (vobtusine, vobtusinelactone and subsessiline) and nine are new.

Résumé—Des feuilles de *Voacanga thouarsii* Roem. et Schult. ont été isolés 3 alcaloïdes indoliques (ibogaïne, voacangine, voacristine) et 12 alcaloïdes 'bis-indoliques' dont trois déjà connus (vobtusine, vobtusinelactone et subsessiline) et neuf nouveaux (bases A à I).

INTRODUCTION

LA COMPOSITION en alcaloïdes des Apocynacées du genre *Voacanga* a fait l'objet de divers travaux depus 1954.[1] Parmi les espèces accessibles, figure *Voacanga thouarsii* Roem et Schult,|| répandue dans toute l'Afrique tropicale ainsi qu'à Madagascar, et dont les écorces avaient donné lieu en 1955 à une première investigation.[2]

La récolte de divers échantillons effectuée ces dernières années (voir Expérimentale) nous a permis d'en reprendre l'étude. Celle-ci a porté sur les écorces de tronc, les racines, les feuilles et les fruits. Les résultats obtenus sur les troncs, racines et graines ont été rapportés dans une communication antérieure.[3] Ils ont montré une bonne similitude de composition avec celle de l'espèce voisine *V. africana*, en accord avec un travail plus complet effectué par l'équipe de l'un de nous[5] sur des écorces de tronc en provenance du Congo.

L'objet du présent mémoire concerne l'étude des feuilles de *Voacanga thouarsii*. Il décrit l'isolement de trois bases 'monoindoliques' de structure déjà connue (ibogaïne, voacangine, voacristine) et de douze bases 'bisindoliques' dont neuf sont nouvelles, les trois autres ayant été identifiées à la vobtusine,[6,7] la vobtusine-lactone et la subsessiline (amataïne).

* Partie XI Vdans la série "Alcaloïdes des *Voacanga*". Pour Partie XIII voir Ref. 3. Equipe de Recherche Associée au C.N.R.S. No. 317 "Chimie des Substances Naturelles".

† Adresse présente: Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S., 91190 Gif-sur-Yvette, France.

‡ Adresse présente: Centre ORSTOM, Tananarive, Madagascar.

§ Laboratoire de Chimie Organique, Université Libre de Bruxelles, Belgique.

|| Identique à *V. obtusa* K. Schum et à *V. thouarsii*, var. *obtusa* Pichon.

1 KUNESCH, N., DAS, B. C. et POISSON, J. (1970) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 4370; et références citées.
2 JANOT, M.-M. et GOUTAREL, R. (1955) *Compt. Rend.* **240**, 1719.
3 ROLLAND, Y., CROQUELOIS, G., MIET, C., KUNESCH, N., BOITEAU, P., DEBRAY, M. et POISSON, J. (1973) *Colloque international sur les plantes de Madagascar et du bassin de l'Ocean Indien. Tananarive*, 7 *avril* 1972, A. paraître.
4 KUNESCH, N., POISSON, J. et GUILHEM, J. (1971) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1919.
5 GOLDBLATT, A., HOOTELE, C. et PECHER, J. (1970) *Phytochemistry* **9**, 1293.
6 POISSON, J., PLAT, M., BUDZIKIEWICZ, H., DURHAM, L. J. et DJERASSI, C. (1966) *Tetrahedron* **22**, 1075.
7 GORMAN, A. A., AGWADA, Y., HESSE, M., RENNER, U. et SCHMID, H. (1966) *Helv. Chim. Acta* **49**, 2072.

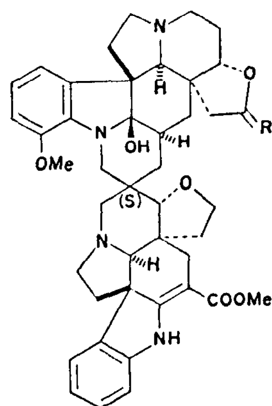
RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les feuilles pulvérisées ont été extraites par l'alcool à 90°. L'extrait alcoolique concentré a été repris par de l'eau acétique à 2%, filtré puis alcalinisé à l'ammoniaque et épuisé au chloroforme. Ces bases totales brutes dissoutes dans de l'eau sulfurique à 2% ont été extraites à trois pH de valeur croissante (1; 9; > 12). Les alcaloïdes des trois fractions obtenues ont été isolés par les méthodes usuelles (filtration sur Sephadex LH20, distribution à contre-courant, chromatographie sur gel de silice en colonne et en couche mince). Le tableau 1 résume les séparations effectuées. Un fractionnement très laborieux a permis d'isoler quinze alcaloïdes en quantité assez faible, sauf la vobtusine qui constitut l'alcaloïde majeur. Les analyses spectroscopiques de ces produits permettent de les classer en deux groupes.

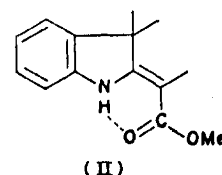
Alcaloïdes 'Doubles' Bis-indoliques

Dans ce groupe, trois alcaloïdes ont été identifiés respectivement à la vobtusine (Ia),[6,7] à la vobtusine-lactone (Ib)[1] et à la subsessiline (amataïne)[8,9] par comparaison à des échantillons de référence.

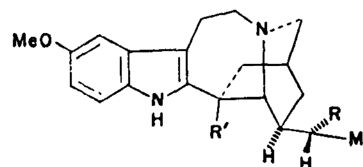
Neuf alcaloïdes, désignés provisoirement par A–I, sont nouveaux. On peut cependant les rattacher au type structural de la vobtusine à l'aide de certaines données spectrales, notamment la fragmentation en spectrométrie de masse fournissant les ions caractéristiques des alcaloïdes de ce type.[6,7] Parmi eux, sept possèdent le chromophore carbométhoxyméthylidène-indoline (II) de la partie A de la vobtusine, décelé par le spectre UV, et confirmé par les données IR, RMN et SM. Leurs structures sont actuellement à l'étude.



(Ia) R = H_2 Vobtusine
(Ib) R = O Vobtusine-lactone



(II)



(IIIa) R = H; R' = H Ibogaine
(IIIb) R = H; R' = COOMe Voacangine
(IIIc) R = OH; R' = COOMe Voacristine

Alcaloïdes Simples Monoindoliques

L'examen de leurs caractéristiques physiques puis la comparaison avec des échantillons de référence ont permis de les identifier à trois bases indoliques de structure proche déjà

[8] POISSON, J., MUQUET M. et KUNESCH, N. (1967) Résultats non publiés. Communiqués au *Meeting on the Chemistry of Alkaloids*, Manchester (Avril 1967).
[9] AGWADA, Y. PATEL, M. B., HESSE, M. et SCHMID, H. (1970) *Helv. Chim. Acta* **53**, 1567.

signalées dans le genre *Voacanga*: ibogaïne (IIIa),[10,11] voacangine (IIIb),[12] voacristine (voacangarine) (IIIc).[13]

EXPERIMENTALE

Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur gel de silice Merck avec la série éluotrope: C_6H_6, Et_2O, MeOH. Les chromatographies préparatives ont été réalisées sur gel de silice HF 254 Merck avec les systèmes de solvants: CH_2Cl_2–MeOH ou EtOAc–C_6H_6–MeOH. Les spectres de masse en haute résolution (HR) ont été déterminés sur un appareil Varian MAT dans le service du Prof. H. Budzikiewicz (Institut de Chimie Organique de l'Université de Cologne). Les spectres RMN ont été mesurés en solution dans $CDCl_3$ par rapport au TMS (déplacements en δ ppm, *s*: singulet, *d*: doublet) et les spectres UV dans EtOH.

Purification et isolement des alcaloïdes. Origine des échantillons. Un premier lot de feuilles, d'écorces de tiges et de racines a été récolté à Madagascar en 1967 dans la région de Brikaville (Côte Est) par P. Boiteau (Mission CNRS, lot No. 503). Une autre récolte portant sur des écorces de racines a été effectuée par M. Debray en Juin 1967 à Madagascar (Manakara) (Mission ORSTOM, lot No. 29). Les échantillons d'herbier sont déposés au Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris.

Obtention des bases totales. Les feuilles sèches (12 kg) sont épuisées par plusieurs macérations à froid sous agitation dans EtOH 90° jusqu'à ce que le soluté extractif donne une réaction négligeable au réactif de Mayer. L'ensemble des extraits alcooliques est évaporé puis repris par de l'eau acétique à 2%. La solution acétique est centrifugée, lavée à l'Et_2O pour éliminer les pigments, puis alcalinisée avec NH_4OH et épuisée par $CHCl_3$. L'évaporation des extraits chloroformiques donne 130 g de bases brutes (10,8 g/kg). La phase aqueuse épuisée ne contient plus d'alcaloïdes.

Purification et isolement des alcaloïdes. Les bases totales sont reprises par H_2SO_4 à 2% et épuisées par CH_2Cl_2. La phase organique lavée avec NH_4OH donne les *Bases I* (20 g). La phase acide neutralisée par NaOH diluée est extraite par le mélange Et_2O–$CHCl_3$ (3:1) qui entraîne les *Bases II* (41 g). Une dernière extraction par $CHCl_3$ à pH très alcalin donne les *Bases III* (27 g).

Bases I (bases très faibles). Par chromatographie sur colonne puis sur plaque préparative, on isole les alcaloïdes A–D.

Bases II (bases faibles). Ces bases cristallisent directement dans un mélange CH_2Cl_2–MeOH. On obtient 5 g de cristaux dont on isole par chromatographie préparative sur plaque la vobtusine, la subsessiline et un nouvel alcaloïde I. Les eaux-mères de cristallisation (36 g au total) sont passées sur une colonne de gel de Sephadex LH20 dans le mélange MeOH–$CHCl_3$ (7:1) à raison de 2 g de bases pour 60 g de Sephadex. On classe les fractions recueillies en trois groupes: une fraction de tête non alcoloïdique; une fraction de coeur II-D (poids 18 g); une fraction de queue II-M (poids 4 g). Les bases II-D sont soumises d'abord à une distribution à contrecourant entre $CHCl_3$ (phase fixe) et un tampon Mac Ilvaine de pH 2,2; on obtient 6 fractions contenant des alcaloïdes à PM élevé: de la fraction 1 (poids 3 g) on isole par chromatographie préparative sur plaque l'alcaloïde H. Les fractions 2 (poids 2 g) et 3 (poids 2,1 g) sont réunies et soumises à une nouvelle répartition par contre-courant à pH 2,3. Les sous-fractions *a–e* séparées sont ensuite chromatographiées sur plaque préparative et l'on isole la vobtusine (de *c*, *d* et *e*), la vobtusine-lactone et l'alcaloïde A (de *b*), la subsessiline et l'alcaloïde I (de *c*). Les fractions 4 (poids 2 g) et 5 (poids 2,8 g) donnent chacune de la vobtusine par cristallisation directe dans MeOH. Les eaux-mères de 5 sont chromatographiées sur colonne et l'on en isole de nouveau la vobtusine à côté d'une base non identifiée. La fraction 6 (poids 8,9 g) est soumise à une nouvelle distribution par contre-courant à pH 3,2; les sous-fractions obtenues (*a–f*) sont ensuite chromatographiées sur plaque préparative et l'on en isole les alcaloïdes G (de *a*), F (de *b*), et E (de *c*), de basicité et de polarité supérieures à la vobtusine. Les bases IIM fournissent par chromatographie préparative sur plaques trois produits à structure monoindolique: ibogaïne, voacristine et voacangine.

Bases III (bases fortes). Ces bases cristallisent dans MeOH: on obtient 12 g d'un mélange de vobtusine et d'alcaloïde I, résolu par chromatographie sur plaque. Les eaux-mères contiennent d'autres bases, mais n'ont pas été analysées.

Caractéristiques des alcaloïdes. Alcaloïde A. Cristallise dans MeOH; F 282–285° (dec); $[\alpha]_{578}$ −130 ± 5°; UV: λ_{max} nm (log ε) 220 (4,49), 263 (4), 292 (4,14), 328 (4,18). IR ($CHCl_3$): ν cm^{-1} 3400, 1680, 1650, 1615. RMN: δ ppm 8,65 (1*p*,*s*); 4,55 (1 *p*,*d*, J_{H-H} = 14); 3,78 (3 *p*,*s*,); 3,75 (3*p*,*s*). (*Anal.* (spectrométrie de masse HR) pour $C_{43}H_{48}N_4O_7$: Calc.: 732,352278; Tr.: 732,350151).

Alcaloïde B. Cristallise dans Me_2CO; F 270–290° (dec); UV: λ_{max} nm (log ε): 222 (4,78), 263 (4,07), 297 (4,18), 327 (4,25). IR ($CHCl_3$): ν cm^{-1} 3400, 1685, 1650, 1620. RMN: δ ppm 9 (1*p*,*s*); 4,75 (1*p*,*d*, J_{H-H} = 14); 3,84 (3*p*,*s*); 3,82 (3*p*,*s*). SM: M^+ à *m*/*e* 748 (formule possible $C_{43}H_{48}N_4O_8$).*

* Dans ces deux cas la formule moléculaire est déduite de l'analyse en haute résolution d'ions de masse inférieure à celles des ions M^+, les mesures sur ceux-ci étant peu sûres en raison de leur faible intensité.

[10] Dickel, D. F., Holden, C. L., Manfield, R. C., Paszek, L. E. et Taylor, W. I. (1958) *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 123.
[11] Bartlett, M. F., Dickel, D. F. et Taylor, W. I. (1958) *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 126.
[12] Percheron, F., Le Hir, A., Goutarel, R. et Janot, M.-M. (1957) *Compt. Rend.* **245**, 1141.
[13] Renner, U. et Prins, D. A. (1961) *Experientia* **17**, 106.

Alcaloïde C. Cristallise dans MeOH; F 290–295° (dec); $[\alpha]_{578}$ −282° ± 5°. UV: λ_{max} nm (log ε) 223 (4,57), 263 (4,1), 299 (4,17), 328 (4,21). IR (CCl_4): ν cm^{-1} 3380, 1685, 1625, 1610. RMN: δ ppm 8,9 (1*p*,*s*); 5 (1*p*,*d*, J_{H-H} = 14); 3,78 (3*p*,*s*); 3,72 (3*p*,*s*). SM: M^+ à *m/e* 774 (formule possible $C_{42}H_{54}N_4O_{10}$).*

Alcaloïde. Amorphe. UV: λ_{max} nm (log ε): 223 (4,40), 265 (3,97), 297,5 (4,04), 328 (4,68). IR ($CHCl_3$): ν cm^{-1} 3400, 1680, 1665, 1615. RMN: δ ppm 8,85 (1*p*,*s*); 4,8 (1*p*,*d*, J_{H-H} = 13); 3,8 (3*p*,*s*), 3,77 (3*p*,*s*). (*Anal.* (spectrométrie de masse HR) pour $C_{43}H_{48}N_4O_6$: Calc.: 716,357364. Tr. 716,355119).

Alcaloïde E. Cristallise dans MeOH; F 235–238°. $[\alpha]_{578}$ −140° ± 5°, UV: λ_{max} nm (log ε) 225 (4,66), 265 (4,08), 283 (3,96, épaulement) 291 (3,90, épaulement). IR (CCl_4): ν cm^{-1} 3510, 1740, 1605, 1590. RMN: δ ppm 3,85 (3*p*,*s*), 3,18 (3*p*,*s*). (*Anal.* (Spectrométrie de masse HR) pour $C_{43}H_{50}N_4O_7$: Calc.: 734,367927; Tr.: 734,365106).

Alcaloïde F. Cristallise dans Me_2CO; F 283–290° (dec). UV: λ_{max} (log ε) 223 (4,57), 261 (4), 301 (4,13), 325 (4,21). IR (KBr): ν cm^{-1} 1680, 1610, 770, 745. RMN: δ ppm 8,9 (1*p*,*s*); 3,8 (3*p*,*s*). (*Anal.* (Spectrométrie de masse HR) pour $C_{42}H_{48}N_4O_6$: Calc: 704,357364; Tr.: 704,352612).

Alcaloïde G. Cristallise dans Et_2O, $[\alpha]_{578}$ +46° ± 5°, F 280–285° (dec). UV: λ_{max} nm (log ε) 221 (4,63), 260 (4,29), 298 (3,70). IR (KBr) ν cm^{-1} 1605, 1590, 770, 735. RMN: δ ppm: 3,8 (3*p*,*s*). (*Anal.* (Spectrométrie de masse HR): pour $C_{42}H_{50}N_4O_5$: Calc.: 690,378098; Tr.: 690,379354).

Alcaloïde H. Cristallise dans Me_2CO; F 237–239° (dec), $[\alpha]_{578}$ −292 ± 5°. UV: λ_{max} nm (log ε) 220 (4,72), 263 (4,29), 295 (4,39), 328 (4,49). IR ($CHCl_3$): ν cm^{-1} 3400, 1780, 1765, 1680, 1610. RMN: δ ppm 8,96 (1*p*,*s*); 3,82 (3*p*,*s*), 3,80 (3*p*,*s*). (*Anal.* (Spectrométrie de masse HR) pour $C_{43}H_{40}N_4O_7$: Calc.: 730,336628; Tr.: 730,336795).

Alcaloïde I. Amorphe. UV λ_{max} nm 223, 264, 300 et 327. IR ($CHCl_3$): ν cm^{-1} 3400, 1675, 1610. RMN: δ ppm 8,9 (1*p*,*s*); 4,95 (1*p*,*s*); 3,7 (3*p*,*s*); 3,6 (3*p*,*s*). (*Anal.* (Spectrométrie de masse HR) pour $C_{43}H_{48}N_4O_6$: Calc.: 716,357363; Tr.: 716,357328). Tous ces alcaloïdes donnent avec HNO_3 une coloration bleue intense sauf F (coloration brune) et G (coloration rose).

Remerciements—Nous tenons à remercier ici: MM. P. Potier et H. Jacquemin qui nous ont aidé dans les récoltes de plantes, Escaut pour l'extraction à l'atelier de l'I.C.S.N. de Gif, M. J. Kotel (Université libre, Bruxelles) pour son aide dans les séparations par contre-courant, Mme M. Troly et Mlle C. Miet pour les fractionnements, Mmes M. Zuber et Y. Rigaud ainsi que M. Adrien Cavé, qui ont déterminé les spectres de RMN, MM. B. C. Das et Cosson (I.C.S.N., Gif) responsables des SM, et particulièrement le Prof. Dr. H. Budzikiewicz (Cologne) pour toutes les mesures faites en spectrométrie de masse à haute résolution.